مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۱، سال ۱۳۹۵

واکنش لاین‌ها و هیبریدهای دیررس ذرت به بیماری لکه سوختگی جنوبی ناشی از قارچ *Bipolaris maydis*

Response of Late Maturity Maize Lines and Hybrids to Southern Corn Leaf Blight Disease Caused by *Bipolaris maydis*

مجید زمانی

استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۴

چکیده

زمانی، م. ۱۳۹۵. واکنش لاین‌ها و هیبریدهای دیررس ذرت به بیماری لکه سوختگی جنوبی ناشی از قارچ *Bipolaris maydis*. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲**: ۱۱۷-۹۵.

به منظور ارزیابی مقاومت لاین‌ها وهیبریدهای دیررس ذرت نسبت به عامل بیماری لکه سوختگی جنوبی (*Bipolaris maydis*)، آزمایشی با هفده لاین و هیبرید دیررس ذرت در سال ۱۳۹۲ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو منطقه کرج و ساری اجرا شد. آلودگی مصنوعی یک بار با مایه‌زنی سوسپانسیون اسپور که در مرحله ۳تا ۴ برگی به قیف بوته‌های ذرت (Whorl) با سرنگ تزریق شد و یک بار دیگر با مایه‌زنی دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ عامل بیماری با دستگاه بازوکا در مرحله ۸-۶ برگی در قیف هر بوته انجام شد. ارزیابی بیماری یک ماه بعد از مایه‌زنی نوبت دوم با اندازه‌گیری درصد شدت بیماری روی برگ‌ها انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین لاین‌ها و هیبریدها از نظر شدت بیماری روی برگ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در بین هشت هیبرید آزمایشی، تنها هیبرید شماره ۱۷ با شجره KSC708 (A679 ×K19) در گروه مقاوم (R) قرار گرفت. در بین نه لاین آزمایشی نیز پنج لاین در گروه نیمه مقاوم (MR) قرار گرفتند که شدت بیماری دو لاین تجاری MO17 و K19 کمتراز ۱۰ درصد بود. بر اساس نتایج این تحقیق این دو لاین به عنوان منبع مناسبی برای مقاومت به بیماری لکه سوختگی جنوبی شناسائی شدند. لاین K19 والد پدری هیبرید KSC708 (A679 × K19) است که به عنوان هیبرید مقاوم در این بررسی شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: ذرت، هیبریدهای دیررس، مقاومت، *Bipolaris maydis*، آلودگی مصنوعی.

نویسنده مسئول: zamani_mf@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۳۷۸۶

مقدمه

یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ذرت، لکه‌برگی‌های هلمینتوسپوریومی است. لکه‌برگی‌ها در سراسر جهان در مناطق ذرت کاری وجود دارند و درایران نیز این بیماری‌ها از مناطق مرطوب در استان‌های مازندران، گیلان و گرگان جمع‌آوری و گزارش شده‌اند (Mehrian *et al.*, 2000). بیماری‌های لکه برگی علاوه بر کاهش محصول، ارزش غذایی علوفه را نیز کاهش می‌دهند. کاهش عملکرد به واسطه بیماری لکه برگی ذرت بستگی به عامل بیماری و شرایط محیطی دارد و می‌تواند قابل توجه باشد، در این مورد کاهش عملکرد بالای ۴۰٪ یا بیشتر در آزمایش‌هایی که با نژاد O مایه‌زنی شده بودند گزارش شده است (Byrenes *et* al., 1989؛ Fisher *et al.*, 1976).

در مورد خسارت عوامل لکه برگی می‌توان به دو گونه *Bipolaris maydis* و *Exserohilum turcicum* اشاره کرد که خسارت عمده‌ای به محصول وارد می‌سازد (Shurtleff, 1980).

علائم بیماری ناشی از گونه *B. maydis* به صورت لکه‌های کوچک و الماسی شکل ظاهر می‌شود و سپس بزرگ‌تر شده به طول ۲تا ۳ سانتی‌متر می‌رسد. رشد آن‌ها محدود به رگبرگ های مجاور بوده ولی این لکه‌ها ممکن است در مواردی که آلودگی شدید باشد به هم پیوسته و در ناحیه وسیعی از برگ سوختگی ایجاد کنند.

گونه *Bipolaris maydis* با نژاد T در سال ۱۹۷۰ باعث از بین رفتن تمامی هیبریدهای ذرت در منطقه آمریکا شد. خسارت نژاد T به خاطر توانایی تولید یک توکسین (T- toxin) از خانواده پلی‌کتاید (Polyketide) در هیبریدهای حساس T. cms بود که بعد از حذف این هیبرید، اپیدمی این نژاد در شمال آمریکا به سطح خیلی پایین رسید (Leonard, 1977). این بیماری به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های بذرزاد ذرت به حساب می‌آید و خسارت زیادی به محصول وارد می‌سازد و با نام (SCLB: Southern corn leaf blight) معروف است (White, 1999). بیماری SCLB توسط قارچ آسکومیست *Cochiliobolus heterostrophus* Drechs. با آنامورف *Bipolaris maydis* ایجاد می‌شود. این قارچ دارای سه نژاد است که نژاد O رایج‌ترین نژاد دربیشتر مناطقی است که SCLB به وقوع می‌پیوندد (White, 1999). درجه حرارت و رطوبت یکی از مهم‌ترین عوامل گسترش این بیماری به حساب می‌آیند (Shurtleff *et al* ., 1985). برای مقابله با بیماری‌های لکه برگی می‌توان از اقدامات زراعی مانند رعایت تناوب و از بین بردن بقایای گیاهی استفاده کرد تا از شیوع و گسترش بیماری جلوگیری شود ولی مهم‌ترین راه کنترل بیماری‌های لکه برگی، اسنفاده از ارقام مقاوم است. برای تعیین مقاومت ارقام نسبت به بیماری‌های لکه برگی، گزارش‌های متعددی

وجود دارد. مقاومت به *E. turcicum* از نوع پلی‌ژنتیک است و قابلیت توارث پذیری بسیار بالایی برای این نوع مقاومت وجود دارد. برای گونه *B. maydis* نیز گزارش داده‌اند که نوع مقاومت پلی ژنتیک و این مقاومت به صورت کمی و با توجه به اندازه لکه ارزیابی می‌شود و با میزبان بافت برگ آلوده همبستگی دارد (Craig and Daniel- Kalio, 1968؛ Burnette and White, 1985).

برای تهیه ارقام مقاوم، شیوع بیماری اهمیت خاصی دارد. برای یکنواختی بیشتر استفاده از روش‌های آلودگی مصنوعی کمک موثر و کارآمدی در برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به بیماری‌ها است. موثرترین روش کنترل بیماری لکه برگی ذرت استفاده از هیبریدهای مقاومی است که به طور ژنتیکی مقاوم باشد (Carson *et al*., 2004). تعدادی از محققین بر این باورند که بسیاری از ژن‌ها که اغلب اثر افزایشی دارند، موجب کنترل بیماری لکه برگی ذرت می‌شوند (Lim ,1975؛ Burnetle and White, 1985). کارسن و همکاران (Carson *et al*., 2004) به منظور تهیه نقشه ژنتیکی (QTL) برای مقاومت به SCLB نشان دادند که هیچ گونه اثر متقابل افزایشی × افزایشی در کنترل این بیماری مشاهده نشد و نتایج آن‌ها ثابت کرد که توارث پذیری مقاومت به SCLB پلی‌ژنیک است.

در ایران در سال‌های قبل به طور پراکنده بررسی‌هایی جهت ارزیابی مقاومت لاین‌ها و هیبریدهای ذرت نسبت به بیماری لکه سوختگی جنوبی در شرایط طبیعی انجام شده است. زمانی و مهریان (Zamani and Mehrian, 2005) در بررسی هفده لاین و هیبرید ذرت به این بیماری لاین K3547/212 را مقاوم‌ترین و لاین K3653/111 را حساس‌ترین لاین‌ها به این بیماری معرفی کردند. آن‌ها همچنین برای شناسایی جدایه‌ها و تشخیص گونه‌ها از کلید سیوا نسن (Sivanesan, 1987) استفاده کردند و اکثریت گونه‌های قارچی جدا شده را *Bipolaris maydis* تشخیص دادند. زمانی و چوکان (Zamani and Choukan, 2000) در ارزیابی ۶۰ ترکیب ذرت نسبت به لکه برگی مقاوم‌ترین ترکیب را K1259 × Mo17 شناسایی کردند.

نظر به این که بیماری لکه سوختگی جنوبی در سال‌های اخیر در بسیاری از مناطق ایران از جمله مناطق شمالی کشور مانند گرگان، مازندران و گیلان گسترش چشمگیری پیدا کرده و با توجه به این که اقتصادی‌ترین روش مبارزه، کاشت ارقام مقاوم است، این آزمایش بدین منظور طراحی شد تا ژنوتیپ‌های مقاوم دیررس ذرت مشخص شوند واز آن‌ها در برنامه‌های آتی به‌نژادی استفاده شود.

مواد و روش‌ها

از مزارع مختلف آزمایشی، زراعی و تولید بذر در مناطق مختلف ساری بازدید به عمل آمد و نمونه‌های آلوده به بیماری لکه سوختگی

جنوبی جمع‌آوری شد. نمونه‌های آلوده به بیماری به طور مجزا در پلاستیک گذاشته شدند و پس از ثبت مشخصات در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شدند. برای جداسازی قارچ عامل یا عوامل بیماری از حاشیه بافت آلوده برگ، قطعات کوچک برش داده شده و در محلول کلراکس نیم درصد (محلول رقیق نشده کلراکس دارای ۵٪ کلر فعال است) ضد عفونی سطحی شدند و پس از شستشو با آب مقطر استریل، روی محیط کشت PDA و کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. پس از پنج روز پرگنه‌های قارچ رشد کرده مورد بررسی قرار گرفتند که پس از تک اسپور و خالص‌سازی آن‌ها شناسایی گونه به کمک کلیدهای معتبر انجام شد (Sivanesan, 1987). پس از آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های این قارچ، پنج جدایه که شدت بیماری‌زایی بالایی داشتند برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند. بیماریزایی جدایه‌ها روی گیاهچه‌های ذرت (لاین حساس B73) آزمایش شد و بر اساس تعداد لکه، اندازه لکه و میزان اسپوردهی، جدایه‌های مطلوب انتخاب شدند.

برای ارزیابی واکنش لاین‌ها وهیبریدهای ذرت، هفده لاین وهیبرید در دو منطقه کرج و قراخیل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت کاشته شدند. فاصله‌های ردیف از یک دیگر ۷۵ سانتی‌متر و طول هر خط دو متر با فاصله ۲۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در طول فصل رشد کلیه عملیات زراعی انجام و یادداشت برداری لازم نظیر جوانه‌زنی، ظهور تاسل و کاکل صورت انجام شد. برای آلودگی مصنوعی، مخلوطی از پنج جدایه برتر بیماریزا استفاده شد. مایه‌زنی در دو نوبت و در دو مرحله فنولوژیکی گیاه (تزریق سوسپانسیون اسپور در مرحله ۴-۳ برگی در قیف بوته ذرت و رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ در مرحله ۸-۶ برگی با دستگاه بازوکا در قیف بوته ذرت استفاده شد.

در نوبت اول برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری از برگ‌های تمیز و سبز ذرت برای بستر مایه قارچ استفاده شد (Bajet and Renfro, 1994). بدین منظور برگ‌های سبز ذرت را پس از شستشو با آب سرد به قطعات ۵ تا ۱۰ سانتی‌متری بریده و در ارلن مایر ریخته و دو بار به مدت ۳۰ دقیقه به فاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو شدند. بعد از اتوکلاو، برگ‌های ذرت را با برش‌های کوچک (plug) کلنی هر یک از جدایه‌های قارچ عامل بیماری آغشته به طور جداگانه مایه‌زنی و به مدت ۳ هفته در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از این مدت با شستن برگ‌ها، اسپورهای آن‌ها جمع‌آوری و مخلوطی از سوسپانسیون اسپور پنج جدایه با غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد و در مرحله ۴-۳ برگی به میزان ۲-۱ میلی‌لیتر در قیف هر بوته تزریق شد.

در نوبت دوم برای مایه‌زنی از بذر سورگوم استفاده شد (Jeffers, 1994)، بدین طریق که

دانه‌های سورگوم پس از چندین بار شستشو درون ارلن‌های یک لیتری ریخته شده و به اندازه تعداد جدایه‌ها ارلن تهیه کرده و بذرها را داخل آن‌ها ریخته و دو بار اتوکلاو انجام شد سپس تکه‌هایی ازکلنی رشد یافته هر جدایه را درون ارلن ریخته و ارلن‌های مایه‌زنی شده در شرایط ۲۵ درجه سانتی‌گراد داخل ژرميناتور زیر نورNUV قرار گرفتند. بعد از ۲۵-۲۰ روز دانه‌های سورگوم آلوده را خشک کرده، و مایه‌زنی بوته‌ها با بذرهای آلوده سورگوم جدایه‌ها با استفاده از دستگاه بازوکا در قیف بوته ذرت (Whorl) در مرحله ۸-۶ برگی، به طور یکنواخت انجام شد.

ارزیابی بیماری یک ماه بعد از مایه‌زنی نوبت دوم بر اساس توسعه آلودگی روی ده بوته در هر ردیف انجام شد. بر اساس درصد آلودگی سطح برگ‌ها، شدت بیماری با مقیاس۵-۰ امتیاز داده شد (Elliott and Jenkins, 1946). بدین ترتیب که **۰ :** بوته های سالم و بدون آلودگی (۱۰۰٪بوته‌ها سالم وصفر در صد شدت آلودگی) ، **۱:** بوته‌های با یک یا دو لکه پراکنده در برگ‌های پایین (شدت آلودگی کمتر یا مساوی ۵٪) **۲:** بوته‌های با تعداد کمی لکه در برگ‌های پایین (شدت آلودگی کمتر یا مساوی۲۰٪)، **۳:** بوته‌های با لکه‌های فراوان در برگ‌های پایین و تعداد کمی لکه در برگ‌های بالا (آلودگی کمتر یا مساوی۳۰٪)، امتیاز ۴ برای بوته‌هایی با لکه‌های فراوان در برگ‌های پایین و وسط بوته و تعداد کمی در برگ‌های بالا (شدت آلودگی کمتر یا مساوی۵۰٪)، و ۵: بوته‌هایی با تعداد زیادی لکه‌های نکروتیک در تمامی برگ‌های بالا و پایین (شدت آلودگی بیشتر از ۵۰٪)، در نظر گرفته شد.

در نهایت، پس از ارزیابی و امتیازدهی وتعیین شدت بیماری کلیه ژنوتیپ‌ها برا ی بیماری لکه سوختگی جنوبی ذرت، داده‌های حاصل موردتجزیه واریانس قرار گرفتند و بر اساس شدت بیماری کلیه ژنوتیپ‌ها از نظر حساسیت به بیماری مقایسه شدند. واکنش ژنوتیپ‌ها به لکه سوختگی جنوبی ذرت بر اساس شدت بیماری به شرح زیر تعیین شد:

R: مقاوم (Resistant) آلودگی مساوی یا کمتر از پنج درصد

MR: نیمه مقاوم (Moderately Resistant) آلودگی مساوی یا کمتر از ۲۰ درصد

MS: نیمه حساس (Moderately Susceptible) آلودگی مساوی یا کمتر از ۳۰ درصد

S: حساس (Susceptible) آلودگی مساوی یا کمتر از ۵۰ درصد

HS: بسیار حساس (Highly Susceptible) آلودگی بیشتر از ۵۰ درصد.

بر این اساس کلیه لاین‌ها وهیبریدها در گروه‌های مختلف طبقه‌بندی شدند تا مواد مقاوم، نیمه مقاوم و حساس شناسایی شوند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده

در مورد شدت بیماری لکه سوختگی جنوبی تحت تأثیر جدایه‌های بیماریزای (*B. maydis*) قارچ عامل بیماری نشان داد که در هر دو منطقه به احتمال ۹۹ درصد بین لاین‌ها و هیبریدهای مختلف ذرت دیررس از نظر شدت بیماری لکه سوختگی جنوبی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس شدت بیماری لاین‌ها وهیبریدهای دیر رس ذرت در دو منطقه کرج و ساری درسال ۱۳۹۲

Table 1. Analysis of variance for disease severity of late maturity maize lines and hybrids in Karaj and Sari in 2013

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS
Location (L)	منطقه	1	2520.08**
Error (E1)	اشتباه	4	40.87
Genotype (A)	ژنوتیپ ذرت	16	492.12**
L × A	ژنوتیپ × منطقه	16	12.88**
Error (E2)	اشتباه آزمایش	64	16.07
CV. %	درصد ضریب تغییرات		19.88%

**: Significant at 1% probability level. ** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

اثر مناطق و اثر متقابل ژنوتیپ × منطقه نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود که نشان می‌داد روند بیماری در هر دو مکان از نظر شدت بیماری (DS) مشابه نبوده است و بین مناطق تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

براساس واکنش لاین‌ها وهیبریدها به بیماری لکه سوختگی جنوبی در هر منطقه بر اساس شدت بیماری، لاین‌ها و هیبریدهای دیررس ذرت به گروه‌های مختلف تقسیم شدند که نتایج آن به صورت جداگانه برای مناطق کرج و ساری در جدول ۲ منعکس شده است.

از نظر حساسیت به بیماری لکه برگی با استفاده از شاخص شدت بیماری لاین‌ها و هیبریدها در چهار گروه حساس (S)، نیمه حساس (MS)، نیمه مقاوم (MR) و مقاوم (R) قرار گرفتند که به شرح زیر بودند:

گروه اول (حساس): در این بررسی دو لاین شماره ۷ و ۲ با شجره K 74/1 و B73 rfc در گروه حساس قرار گرفتند.

گروه دوم (نیمه حساس): دو لاین شماره ۸ و ۹ با شجره K 166A و K 166B و سه هیبرید شماره ۱۴ KSC709 (K47/2-2-1-3-3-1-1-1 × K3640/3)، شماره ۱۵ KSC713 (K47/2-2-1-3-3-1-1-1 ×K19)

جدول ۲- مقایسه میانگین شدت بیماری و واکنش لاین‌ها و هیبریدهای دیررس ذرت نسبت به بیماری لکه سوختگی جنوبی در سال ۱۳۹۲ در دو منطقه کرج و ساری

Table 3. Mean comparison of disease severity and response of late maturity maize lines and hybrids to southern leaf blight in Karaj and Sari in 2013

ردیف No.	ژنوتیپ Genotype	شدت بیماری در کرج Disease severity in Karaj (%)	شدت بیماری در ساری Disease severity in Sari (%)	شدت بیماری در دو منطقه Disease severity in Karaj and Sari (%)	واکنش Response
1	B73 CMS	12.00de	22.67cde	17.33d	MR
2	B73 rfc	32.00a	45.00a	38.50a	S
3	MO17	5.00ef	10.00fg	7.5e	MR
4	K18	15.33d	23.33cde	19.33d	MR
5	K19	5.00ef	11.67efg	8.33e	MR
6	K19/1	11.33de	25.00cd	18.17d	MR
7	K 74/1	28.67ab	43.67ab	36.17a	S
8	K 166A	18.00cd	26.33cd	22.17cd	MS
9	K166B	17.00cd	25.33cd	21.17d	MS
10	KSC 704 (B73 × MO17)	11.33de	20.33def	15.83d	MR
11	KSC 700 (K74/1 × K18)	23.67bc	34.33abc	29.00b	MS
12	KSC 705(K3640/3 × MO17)	11.67de	25.67cd	18.67d	MR
13	KSC706 (K3547/4 ×MO17)	11.33de	24.67cd	18.00d	MR
14	KSC709 (K47/2-2-1-3-3-1-1-1 ×K 3640/3)	23.00bc	33.00bc	28.00bc	MS
15	KSC713 (K47/2-2-1-3-3-1-1-1 ×K19)	17.33cd	24.00cd	20.67d	MS
16	KSC707 (K166B ×K18)	12.67d	23.00cde	17.83d	MR
17	KSC708 (A679 ×K19)	1.33f	8.33g	4.83e	R

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level.
HS: Highly Susceptible; S: Susceptible; MS: Moderately Susceptible; MR: Moderately Resistant; R: Resistant.

و شماره ۱۱ (KSC 700 (K74/1 × K18 در گروه نیمه حساس قرار گرفتند.

گروه سوم (نیمه مقاوم): در بین نه لاین آزمایشی، پنج لاین در گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند که دو لاین تجاری MO17 و K19 شدت بیماری کمتراز ۱۰ درصد داشتند. این لاین‌ها می‌توانند که منبع خوبی برای مقاومت به لکه سوختگی جنوبی باشند. پنج لاین شماره ۸، ۹، ۱، ۵ و ۳ که در گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند، تمامی آن‌ها به جز لاین شماره ۱ از گروه‌های هتروتیک هستند. لاین شماره ۳ (MO17) کمترین شدت آلودگی را داشت. از میان هیبریدها، نیزچهار هیبرید شماره ۱۲، ۱۳، ۱۶ و ۱۰ در گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند که هیبرید شماره ۱۰ (KSC 704 (B73 × MO17 کمترین شدت آلودگی را داشت.

گروه چهارم (مقاوم): تنها هیبرید شماره ۱۷ با شجره (KSC708 (A679 ×K19 در این گروه قرار گرفت. والدین این رقم نیز نسبت به بیماری لکه سوختگی جنوبی از مقاومت خوبی برخوردارند که قبلاً درآزمایش‌ها مشاهده شده است (زمانی و مهریان، ۲۰۰۵).

به طور کلی، توسعه بیماری روی لاین‌ها وهیبریدها به علت شرایط مناسب آب و هوایی رضایت‌بخش بود به طوری که دامنه شدت بیماری در بین لاین‌ها وهیبریدها از ۱/۳۳ درصد

در کرج تا ۴۵ درصد در ساری متغیر بود. در بررسی واکنش هفده لاین وهیبرید دیر رس نسبت به بیماری لکه سوختگی جنوبی مشخص شد که بین لاین‌ها و هیبریدهای آزمایشی از نظر شدت بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. نتایج حاصل از گروه‌بندی لاین‌ها و هیبریدها از نظر واکنش به بیماری نشان داد که پنج لاین شماره ۸، ۹، ۱، ۵ و ۳ در گروه نیمه مقاوم (MR) قرار گرفتند که شدت بیماری در دو لاین شماره ۳ و ۵ با شجره MO17 و K19 کمتر از ۱۰ درصد بود. چهار هیبرید شماره ۱۲،۱۰ ، ۱۳ و۱۶ با شجره‌های KSC 705 (K3640/3 × MO17)، KSC 704 (B73 × MO17)، KSC706 (K3547/4 ×MO17) و KSC707 (K166B ×K18) نیز که در گروه نیمه مقاوم (MR) قرار گرفتند فقط تعداد کمی لکه روی برگ‌های پایینی آن ها مشاهده شد بنابراین دو لاین شماره ۳ با شجره MO17 و شماره ۵ با شجره K19 احتمالاً می‌توانند منبع خوبی برای مقاومت به لکه سوختگی جنوبی باشند. لاین MO17، والد پدری اکثر هیبریدهای نیمه مقاوم در این آزمایش است و لاین K19 نیز والد پدری هیبرید KSC708 (A679 ×K19) است که به عنوان هیبرید مقاوم در این بررسی شناسایی شد. این می‌تواند ناشی از اثر عمل افزایشی ژن باشد زیرا در مکانیسم مقاومت به این بیماری، در بسیاری از موارد عمل افزایشی ژن خیلی بیشتر از اثر غیر افزایشی است (Lim and Hooker, 1976؛ Lim, 1975) که در نتایج این بررسی ثابت شد. نتایج آزمایش هالست و همکاران (Halseth *et al*., 1991) برای ارزیابی مقاومت ارقام با استفاده از آلودگی مصنوعی در طی دو فصل نشان داد که اثر افزایشی مقاومت معنی‌دار و جز افزایشی مهم‌ترین فاکتور بوده است.

در بین ژنوتیپ‌های آزمایشی تنها هیبرید KSC708 (A679 × K19) در گروه مقاوم (R) قرار گرفت که می‌تواند هیبرید مناسب و مقاومی به بیماری لکه سوختگی جنوبی باشد. در ژنوتیپ‌های مقاوم تعداد کمی لکه کلروتیک روی برگ‌های پایین بوته ظاهر می‌شود که در این آزمایش این نوع لکه‌ها (لکه کلروتیک) روی برگ‌های پایین این هیبرید مشاهده شد، در این مورد کریج و دانیل و کالیر (Craig and Daniel-Kalir, 1968) در آزمایش‌های خود، محدود شدن لکه‌ها را روی برگ ذرت مشاهده کردند و مقاومت لکه کلروتیک را نسبت به این بیماری گزارش دادند و بیان کردند که این مقاومت، اندازه لکه‌ها را محدود و در اسپورزایی عامل بیماری تاخیر ایجاد می‌شود. در نتایج این آزمایش که هیبرید KSC708 (A679 × K19) به عنوان هیبرید مقاوم شناسایی شد، این نوع لکه‌هابه وضوح مشاهده شد که نتایج این آزمایش تائید می‌شود. اگر به والدین این هیبرید توجه شود والد پدری آن لاین K19 است که یک لاین نیمه مقاوم است، می‌توان مقاوم بودن این هیبرید را به

مقاومت والدین آن‌ها ارتباط داد. در مورد نحوه توارث پذیری نیز اسمیت و هوکر (Smit and Hooker, 1973) در آزمایشی که در مزرعه و گلخانه در مرحله گیاهچه ای انجام دادند نشان دادند که مقاومت لکه کلروتیک به بیماری لکه برگی توسط یک ژن مغلوب به ارث می رسد که آن ژن *rhm* نامگذاری شد. پس از آن ژن *rhm* به بسیاری از لاین‌های خالص ذرت منتقل شد و به عنوان منبع اصلی مقاومت به SCLB شناخته شد (Cai *et al.*, 2003). هوکر (Hooker, 1978) گزارش کرد که بیماری لکه برگی با عامل *B. maydis* مقاومت پلی ژنیک دارد و این مقاومت با درصد آلودگی بافت برگ بستگی دارد، در این آزمایش مشخص شد که هر چه تعداد و اندازه لکه بیشتر باشد حساسیت نسبت به بیماری بیشتر است. در آزمایشی که تامپسون و برگکویست (Thompson and Bergquist, 1984) نیز انجام دادند، نتیجه گرفتند که برای واکنش به این بیماری عمدتاً اثر افزایشی دخالت دارند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که مقاومت به این بیماری به وسیله ژن‌های مغلوب کنترل می‌شود که اثر افزایشی روی هم دارند. زمانی و چوکان (Zamani and Choukan, 2000)، در ارزیابی ۶۰ ترکیب ذرت نسبت به لکه برگی مقاوم‌ترین هیبرید را ترکیب (K1250/1 × MO17) شناسایی کردندکه والد پدری آن لاین MO17 است.

در گروه نیمه حساس دو لاین شماره ۸ و ۹ با شجره K 166A و K 166B و سه هیبرید شماره ۱۴، ۱۵ و ۱۱ در این گروه قرار گرفتند که برگ‌های قسمت پایینی و میانی بوته‌ها و تعداد کمی از برگ‌های بالائی آن‌ها حاوی لکه‌های نکروتیک بودند. دولاین K 74/1 و B73 rfc در گروه حساس قرار گرفتند که تمامی برگ‌ها اعم از قسمت پایینی و میانی و بالایی بوته‌ها حاوی لکه‌های نکروتیک بودند.

یکی از مهم‌ترین فاکتورها در عکس‌العمل ژنوتیپ‌های ذرت نسبت به بیماری لکه برگی درجه حرارت و رطوبت است. این آزمایش با استفاده از آلودگی مصنوعی در دو منطقه کرج و ساری انجام شد. در منطقه ساری به دلیل وجود شرایط مناسب محیطی نظیر درجه حرارت و رطوبت، شدت بیماری بیشتری نسبت به منطقه کرج مشاهده شد.

جفرز (Jeffers, 1994) گزارش کرد که وقتی تزریق سوسپانسیون اسپور در مرحله ۴-۳ برگی در قیف بوته ذرت (Whorl) انجام می‌شود احتمال از بین رفتن مایه قارچ بر اثر تابش نور خورشید وجود دارد ولی در زمان رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ در مرحله ۸-۶ برگی با دستگاه بازوکا در قیف بوته ذرت این عیب برطرف و باعث می‌شود این دانه در مدت زمان زیادی با برگ‌ها در تماس باشند و آلودگی بیشتری ایجاد کنند، بنابراین استفاد ه از این دستگاه برای مایه‌زنی مناسب‌تر است و می‌تواند به عنوان یک روش مایه‌زنی به نام

روش بازوکا (Bazooka method) برای غربال ژنوتیپ‌های ذرت مورد استفاده قرار گیرد.

تا به حال در خصوص این بیماری برای غربال ژرم‌پلاسم ذرت، تحقیقات گسترده‌ای در مراکز بین‌المللی از جمله CIMMYT انجام و روش‌های مختلفی برای آلوده‌سازی گیاهان ارائه داده شده است. در این تحقیق از دو نوبت مایه‌زنی با تزریق سوسپانسیون اسپور و رها کردن دانه‌های آلوده سورگوم به قارچ در قیف گیاه، در دو زمان متفاوت از مرحله فنولوژی گیاه، استفاده و آلودگی به طور یکنواخت انجام شد. مزیت اینو نوع مایه‌زنی این است که در این روش‌ها از خصوصیات ساختمانی بافت گیاه حفاظت می‌شود. با استفاده از این روش‌ها در سیمیت (CIMMYT) موفق شده‌اند جمعیت‌های مقاومی نسبت به این ب یماری از جمله جمعیت‌های ۲۱-۲۲ (Population 21-22) به دست آورند (Jeffers, 1994).

باجت و رینفرو (Bajet and Renfro, 1994) بر اساس میزان در صد پیشرفت بیماری در سطوح برگ‌ها میزان حساسیت و مقاومت لاین‌های ذرت را نسبت به یک‌دیگر بررسی و بیان کردند که در روش بازوکا احتمال آلودگی بیشتر است و می‌توان مواد را نسبت به این بیماری غربال کرد.

در آزمایشی که تامسون و برگ کویست (Thompson and Bergquist, 1984) انجام دادند، نتیجه گرفتند که برای واکنش به این بیماری عمدتاً اثر افزایشی دخالت دارد. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که مقاومت به این بیماری به و سیله ژن‌های مغلوب کنترل می‌شود که اثر افزایشی روی هم دارند. آن‌ها در همان آزمایش چندین لاین ازجمله لاین B73 را در دو مرحله گیاهچه و گیاه کامل نسبت به این بیماری ارزیابی و لاین B73 را حساس نسبت به بیماری گزارش کردند. کارسن و همکاران (Carson *et al* ., 2004) بیان کردند که لاین B73 یک لاین حساس به تعدادی از عوامل بیماریزای لکه برگی است در حالی که لاین MO17 سطح بالایی از مقاومت نسبی به بیماری لکه برگی را دارا است. آن‌ها هفت مکان ژنی QTL را شناسایی کردند که شش تای آن‌ها روی کروموزم های ۱، ۲، ۳، ۴، ۷ و ۱۰ قرار داشتند که از لاین MO17 به دست آمده و QTL اضافی برای مقاومت را روی کروموزوم ۱ مشخص کردند که از لاین B73 ایجاد شد. به طور کلی QTL های روی کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۳ بیشترین اثر را داشتند.

زمانی و چوکان (Zamani and Choukan, 2000) در ارزیابی ۶۰ ترکیب هیبرید ذرت نسبت به بیماری‌های مهم قارچی از جمله لکه برگی با روش بازوکا ترکیب K 1250×MO17 را مقاوم‌ترین ترکیب به این بیماری (SCLB) شناسایی کردند. کارسن و همکاران (Carson *et al*., 2004) بیان داشتند که کنترل بیماری لکه برگی در بسیاری از هیبریدها، ناشی

از مقاومت نسبی پلی ژنتیک است و این نوع مقاومت عمدتاً دارای وراثت متوسط تا بالا بوده و به آسانی در برنامه‌های به‌نژادی قابل اجرا است.

با انجام این آزمایش تائید شد که روش مایه‌زنی بازوکا روش مناسبی برای ایجاد آلودگی در گیاه ذرت است و با استفاده از آن می‌توان میزان حساسیت و مقاومت ارقام و لاین‌های ذرت را به خوبی تعیین نمود. در روش‌هایی که از آلودگی طبیعی استفاده می‌شود بر اساس گزارش باجت و ربنفرو (Bajet and Renfero, 1994) درصد آلودگی در سطح پایینی باقی می‌ماند و دامنه آلودگی حدود ۸ تا ۲۵٪ است در حالی که با روش آلودگی مصنوعی به خصوص با روش بازوکا می‌توان میزان آلودگی را بالا برد و به طور یکنواخت تمام بوته‌ها را آلوده کرد، بنابراین بهتر است در برنامه‌های به‌نژادی، به‌نژادگران جهت غربال ژرم‌پلاسم ذرت نسبت به بیماری‌ها مواد را با آلودگی مصنوعی مورد ارزیابی قرار دهند تا به راحتی به توانند لاین‌ها و هیبریدهای مقاوم نسبت به بیماری‌ها را در بین ژنو تیپ‌های مختلف شناسایی کنند.

References

Bajet, N. B., and Renfro, B. L. 1994. Inoculation Methods for Maize Diseases. CIMMYT, Mexico, D. F. Mexico.

Burnette, D. C., and White, D. G. 1985. Inheritance of resistance to *Bipolaris maydis* race 0 in crosses derived from nine resistant inbred lines of maize. Phytopathology 75: 1195-1200.

Byrnes, K. J., Pataky, J. K., and Whith, D. G. 1989. Relationships between yield of three maize hybrids and severity of southern leaf blight caused by race O of *Bipolaris maydis*. Plant Disease 73: 834-840.

Cai, H. W., Gao, Z. S., Yuyama, N., and Ogawa, N. 2003. Identification of AFLP markers closely linked to the *rhm* gene for resistance to southern corn leaf blight in maize by using bulked sergeant analysis. Molecular Genetic and Genomics 269: 299-303.

Carson, M. L., Stuber, C. W., and Senior, M. L. 2004. Identification and mapping of quantitative trait loci conditioning resistance to southern leaf blight of maize caused by *Cochliobolus heterostrophus* race 0. Phytopathology 94: 862-867.

Craig, J., and Daniel-Kalio, L. A. 1968. Chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium maydis* in maize. Plant Disease Reporter 52: 134-136.

Elliott, C., and Jenkins, M. T. 1946. Helminthosporium leaf diseases of corn.

Phytopathology 36: 660-666.

Fisher, D. A., Hookker, A. L., Lim, S. M., and Smith, D. R. 1976. Leaf infection and yield loss caused by four helminthosporium leaf disease of corn. Phytopathology 66: 942-944.

Halseth, D. H., Pardee, W. D., and Viands, D.R. 1991. Inheritance of resistance to *Helminthosporium carbonum* race 3 in maiz. Crop Science 31: 612-617.

Hooker, A. l. 1978. Genetics of disease resistance in maize, pp. 225-470. In: Walken, D. (ed.). Maize Breeding Genetics. John Wiley and Sons, New York, USA.

Jeffers, D. 1994. Maize Pathology Research for the Subtropics and Highlands. The Subtropical, Mid Altitude and Highland Maize Subprogram, Maize Program Special Report. CIMMYT, Mexico, D. F. Mexico.

Leonard, K. J. 1977. Virulence, temperature optima, and competitive abilities of isolines of races T and O of *Bipolaris maydis*. Phytopathology 67: 1273-1279.

Lim, S. M. 1975. Heterotic effects of resistance in maize to *Helminthosporium maydis* race O. Phytopathology 65: 1117-1120.

Lim, S. M., and Hooker, A. L. 1976. Estimates of combining ability for resistance to *Helminthosporium maydis* race O in a maize population. Maydica 21: 121-128.

Mehrian, F., Zad, S.J. Hejaroud Gh., and Sharifi Tehrani, A. 2000. Study of maize leaf foliar disease in Mazandaran, Guilan and Golestan. Itanian Journal of Plant Pathology 36: 99-113 (in Persian).

Shurtleff, M. C. 1980. Compendium of Corn Diseases. American Phytopathological Scociety Press, St. Paul, Minnesota, USA. 105pp.

Shurtleff, M. C., Eysong, D. S., Wood, L. S., and Weihing, J. L. 1985. Disease resistance and tolerance. pp. 259-326. In: Jugenheimer, R.W. (ed.). Corn Improvement, Seed Production, and Uses. John Wiley and Sons, New York, USA.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs. Mycological Papers 158: 1-261.

Smith, D. R., and Hooker, A. L. 1973. Monogenic chlorotic-lesion-resistance in corn to *Helminthosporium maydis*. Crop Science 13: 330-331.

Thomsom, D. L., and Bergquist, R. R. 1984. Inheritance of mature plant resistance to *Helminthosporium maydis* Race 0 in maize. Crop Science 24: 807-811.

White, D. G. 1999. Compendium of Corn Diseases. 3 rd. ed. American

Phytopatological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA.

Zamani, M., and Choukan, R. 2000. Evaluation of resistance of hybrid maize to the important fungal diseases. Abstracts Book of the Sixth Crop Breeding and Agronomy Congress, Mazandaran University, Sari, Iran. Page 201 (in Persian).

Zamani, M., and Mehrian, F. 2005. The comparison of some selected maize lines and cultivars to foliar disease (*Bipolaris maydis* Nisikado Shoemmaker). Seed and Plant 23: 547-556 (in Persian).